

**İNTESTİNAL AMEBİAZİSTE KANDA VE JEJUNAL BİYOPSİDE
T VE B LENFOSİT ORANLARI**

Mehmet YÜCESOY*
Ömür GÖNEN*
Yusuf ÖZBAL**
Hüseyin KILIÇ***

Ö Z E T

Amebiasisin hücre sel ve humoral immüniteye etkilerini araştırmak amacı ile intestinal amebiazisli onüç hastada ve yedi kontrol vakasında kanda ve jejunal biyopsi ile alınan doku örneklerinde T ve B lenfositleri sayıldı. Amebiasis gurubunda kanda ve jejunal dokuda T lenfosit oranları kontrol gurubundan anlamlı oranda daha düşüktü ($P < 0.05$), B lenfositleri ise amebiazis gurubunda hem kanda hem de dokuda kontrol gurubuna göre anlamlı oranda daha yüksekti. İki gurup arasında dokuda ve kanda null hücre si oranları bakımından anlamlı bir fark yoktu.

Bu bulgular amebiazisin hücre sel immüniteyi baskılayıcı bir etkisi olduğunu düşündürmektedir. Yüksek B lenfosit oranları T lenfosit oranlarındaki azalmaya sekonder olabilir.

S U M M A R Y

**T AND B CELL PROPORTIONS IN BLOOD AND JEJUNAL
BIOPSY IN INTESTINAL AMEBIASIS**

In this study to investigate the effects of amebiasis on cellular and humoral immunity, we counted T and B cells in blood and jejunal tissue in seven control cases and 13 patients with intestinal amebiasis.

(*) Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim Üyesi.

(**) Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi.

(***) Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Uzmanı.

In amebiasis group T lymphocyt proportions were significantly lower than control group in both blood and jejunal tissue ($P < 0.05$). In amebiasis group B lymphocyt proportions were higher than control group in both blood and jejunal tissue. Null cell proportions were not significantly different in two groups.

These findings suggests that nondysenteric amebiasis has a suppressive effect on cellular immunity. High B lymphocyt proportions may be secondary to decrease in T lymphocyt proportions.

KEY WORDS. amebiasis, T and B cells.

Amebiaziste humoral antikorların mevcudiyetine rağmen reinfeksiyonun olduğu bilinmektedir (11), hücrel immünite konusu ise henüz yeterince açıklık kazanmamıştır (4, 5, 9, 12). Amebiaziste hücrel immünite lenfosit transformasyonu (4, 5, 9, 15), migrasyon inhibisyonu (13) ve lökosit migrasyonu (14) yöntemleri ile incelenmiş ve birbiri ile çelişen sonuçlar bildirilmiştir.

T hücreleri koyun eritrositleri ile rozet yapma özellikleri ile tanınmaktadır, B hücreleri ise yüzelelerinde immünglobulin determinantlarının varlığı sayesinde tanınmaktadır (7, 17, 20,21). T ve B lenfosit özelliği taşımayan lenfositler ise null hücresi olarak tanımlanmaktadır (17, 21). Viral infeksiyonlarda, yaygın kanseri olan hastalarda, immünoşüpresif tedavi verilen hastalarda ve primer hücrel bağışıklık hastalıklarında T hücrelerinin sayısının azaldığı bilinmektedir (10, 21).

Klinik olarak hücrel immünoşüpresyon durumlarında amebiazis virulansının arttığı, hatta amebiazisin fatal seyrettiği bilinmektedir (19). Ayrıca parazitlerin hücrel ve humoral bağışıklığı bozabilecekleri de ileriye sürülmüştür (2, 5, 16).

İntestinal amebiazis'in T ve B hücrelerinin oranlarını etkileyip etkilemediklerini araştırmak amacı ile bu çalışmayı planladık. Gastrointestinal sistemin infeksiyöz hastalıklarında mukozal immünitenin özel bir önemi olduğundan (18), çalışmayı hem kanda hem de jejunal dokü örneklerinde yapmanın uygun olacağını düşündük.

MATERYAL VE METOD

Çalışma Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji polikliniğine başvuran 13 nondizanterik intestinal amebiazisli hastada ve 7 kontrol vakasında yapıldı. Amebiasis tanısında taze gaita örneklerinde Entamoeba Histolitika'nın trofozoid veya kistlerinin gösterilmesi esas alındı. Kontrol vakalarını, fizik, gastroduodenoskopik ve rektoskopik muayeneleri normal olan, en az üç kez gaitada parazit muayenesi negatif bulunan ve fonksiyonel gastrointestinal sistem bozukluğu tanısı alan hastalar oluşturdu. Vakaların hepsinden gastroduodenoskopik muayene sırasında jejunumdan endoskopik forsepsle biyopsi alındı, derhal steril Hanks solüsyonu içine konuldu ve aynı gün T ve B lenfositler hesaplandı. Amebiasis gurubundaki beş hastadan ve kontrol gurubundaki bir hastadan alınan doku örnekleri aynı gün çalışmaya alınmadığı için, incelemeye dahil edilmedi.

Santrifüj tüpüne alınan 3 ml periferik kan üzerine 3 ml ficoll - hypaque (Nyegoard Co.) tabaka halinde karıştırılmadan ilave edildi, 1500 d/dk'da 45 dakika süre ile santrifüj yapıldı. Orta kısımdaki lenfositlerden zengin tabaka Pastör pipeti ile alındı ve üç kez Hanks içinde yıkanarak aynı solüsyonla 3×10^6 lenfosit/ml'ye ayarlandı (1).

Kanda T lenfosit sayımı rozet yöntemi ile yapıldı (17). Defibrine koyun eritrositlerinin Hanks içinde hazırlanmış % 1'lik süspansiyonu ile eşit hacimde karıştırılmış inaktif fetal dana serumundan 0.08 ml alınarak 0.2 ml, 3×10^6 lenfosit/ml hücre süspansiyonu üzerine konuldu ve 37°C 'lik etüvde 30 dakika bekletildi. Enkübasyondan sonra koyun eritrositlerinin % 1'lik süspansiyonundan tekrar 0.2 ml ilave edilerek 500 d/dk'da beş dakika santrifüj ile çöktürüldü, 4°C 'de 12 saat bekletildi. Tüp hafifçe sallanarak süspansiyondan Pastör pipeti ile bir damla alındı, mikroskop lamına konulup üzeri lamelle kapatılarak 100 büyütmede rozet yapan lenfosit yüzdesi üçyüz lenfosit sayılarak hesaplandı. En az dört ve daha fazla eritrosit tarafından sarılmış lenfositler rozet olarak tanımlandı.

B lenfosit sayımı Winchester ve Fu'nun direk immünofloresan yöntemi ile yapıldı (20). Lenfositler Hanks içinde yıkandıktan son-

ra 0.5 ml 3×10^6 lenfosit/ml alındı ve üzerine insan globulinlerine karşı koyunlarda hazırlanmış florescein isothiocyanate ile işaretili antiserum (Ig Wellcome) 1/10 dilüsyonunda 0.5 ml ilave edildikten sonra oda ısısında enkübasyona bırakıldı. Hücreler Hanks ile üç kez yıkandıktan sonra lam üzerine alındı, üzeri kapatılıp floresan mikroskobu ile en az dört granüllü floresan veren lenfositlerin yüzdesi hesaplandı.

Dokuda T ve B lenfosit sayımı : Steril Hanks solusyonu içinde yıkanan doku örnekleri bistüri ile küçük parçalara ayrıldı ve 3 ml Medium - 99 içine alındı, madeni bir süzgeçten geçirilerek hücre artıklarından arındırılmış homojen süspansiyon haline getirildi (1). Doku örneklerinde lenfositlerin ayırımı, T ve B hücrelerinin sayımı kanda olduğu gibi yapıldı.

Çalışma kör olarak yapıldı, çalışmacılar örneklerin tanısını bilmiyorlardı.

Verilerin istatistiksel değerlendirmesi Mann Whitney U testi ile yapıldı.

B U L G U L A R

Amebiasis ve kontrol gurupları arasında cinsiyet ve yaş dağılımı bakımından anlamlı fark yoktur ($P > 0.05$), (Tablo I). Doku ve kanda T ve B lenfosit oranları Tablo - II ve Tablo - III'te gösterildi. Kanda T lenfositleri, kontrol gurubunda $\% 45 \pm 10$, amebiasis gurubunda $\% 35.1 \pm 4.2$, B lenfositleri, kontrol gurubunda $\% 42.7 \pm 10.5$ amebiasis gurubunda $\% 52.6 \pm 4.3$ idi. Amebiasis gurubunda T hücresi oranı kontrol gurubuna göre anlamlı olarak daha düşük ($P < 0.05$), B hücresi oranı ise kontrol gurubuna göre anlamlı şekilde daha yüksekti ($P < 0.05$). Null hücreleri bakımından guruplar arasında anlamlı fark yoktu ($P > 0.05$).

Jejunal dokuda T lenfositleri, kontrol gurubunda $\% 24.8 \pm 3.7$, amebiasis gurubunda $\% 17.2 \pm 4$, B lenfositleri kontrol gurubunda $\% 62 \pm 4.9$, amebiasis gurubunda $\% 69 \pm 3.7$ idi. Amebiasis gurubunda T hücresi oranı kontrol gurubundan anlamlı olarak düşük, B hücresi ise kontrol gurubundan anlamlı olarak yüksek ($P < 0.05$). Null hücreleri bakımından guruplar arasında anlamlı fark yoktu ($P > 0.05$).

TABLO I : GURUPLARA GÖRE CİNSİYET VE YAŞ DAĞILIMI

Gruplar	Kontrol		Amebiasis	
	Sayı	Yaş	Sayı	Yaş
Toplam	7	33.2±5.3	13	38.7±8.3
Kadın	2	31.2±5.9	3	40.5±8.8
Erkek	5	36 ±3.6	10	39.5±9.5

TABLO II : GURUPLARA GÖRE KANDA T VE B LENFOSİT YÜZDELERİ

Gruplar	Sayı	% T	% B	% Null
Amebiasis	13	38.7±4.2	52.6± 4.3	12+1.6
Kontrol	7	45 ±10	42.7±10.5	12+1.2

TABLO III : GURUPLARA GÖRE JEJUNAL DOKUDA T VE B LENFOSİT YÜZDELERİ

Gruplar	Sayı	% T	% B	% Null
Kontrol	6	24.8±3.7	62±4.9	13.1+2.3
Amebiasis	8	17.2±4	69±3.7	15 +2.2

TARTIŞMA

Entamoeba histolitika ekstrelerinin hem hayvanlarda hem de insan periferel kanında lenfositleri sensitize ettiği ve lenfositlerde blast transformasyonuna neden olduğu bildirildi (4, 5, 8). Entamoeba histolitika ekstreleri ile muamele edilen periferel kan lenfosit kültüründe, T lenfositlerin prolifer olduğu, B lenfosit fonksiyonlarının ise etkilenmediği bildirildi (5).

Bizim çalışmamızda hem kanda hem de jejunal doku örneklerinde T lenfosit oranında anlamlı bir azalma, B lenfosit oranında ise anlamlı bir artış vardı (P < 0.05). Null hücrelerinde hem kanda hem de dokuda, kontrol gurubuna göre anlamlı bir fark yoktu.

Çalışmamızda T ve B lenfositlerin mutlak sayıları yerine oranları esas alındığından, bu oran değişikliği hem T hücrelerinin sayısındaki azalmaya hem de B hücrelerinin sayısındaki artışa bağlı olabilir (10). İn vitro yapılan bir çalışmada *Entamoeba histolitika* ekstrelerinin B hücrelerini etkilemediği bildirildiğinden B lenfosit oranındaki artışın T lenfosit oranındaki azalmaya sekonder olması daha muhtemeldir (5).

Bozulmuş hücresel immünite, genellikle gecikmiş tipte deri testlerinin negatif olması ve phytohemagglutinin (PHA)'e azalmış cevapla değerlendirilmektedir (6). Malnütrisyonlu çocuklarda yapılan çalışmalarda eritrositlerle rozet yapan T hücresi oranının azaldığı ve bunun PHA'ya azalmış proliferatif cevapla birlikte olduğu bildirilmiştir (3,6). Literatürdeki bu bilgilere göre nondizantetik intastinal amebiaziste tesbit ettiğimiz T lenfosit oranındaki azalma, amebiazisin T hücreleri üzerine süpressif etkisi olduğu şeklinde yorumlanabilir. Konunun aydınlatılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Sonuçların istatistiksel analizini yapan sayın Yrd. Doç. Dr. Osman Günay'a teşekkür ederiz.

K A Y N A K L A R

1. Alexopoulos C, Papayannis AG, Gardikas C : Proportion of B lymphocytes in human tonsils and appendices. *Acta Heamat* 55 : 95-97, 1976.
2. Capron A, Camus D : Immunoregulation by parasite extracts. *Springer Semin Immunopathol* 2 : 69-73, 1976.
3. Chandra RK : Rosette forming T lymphocytes and cell mediated immunity in malnutrition. *Br MJ* 3 : 608-610, 1974.
4. Diamantstein T, Dorathea T, Klos M, et al : Mitogenicity of *Entamoeba histolytica* extracts for murine lymphocytes. *Immunology* 41 : 347-350, 1980.
5. Diamantstein T, Klos M, Gold D, et al : Interaction between *Entamoeba histolytica* and immune system. *The J Immunol* 126 : 2084-2086, 1981.
6. Ferguson AC, Lawlo GL, Neuman CG, et al : Decreased rosette forming lymphocytes in malnutrition and intrauterin growth retardation. *J Pediatrics* 85 : 717, 1974.
7. Fudenberg HH, Wybran J, Robbins D : T rosette forming cells, cellular immunity and cancer. *N Eng J Med* 27 : 475-476, 1975.
8. Gold D, Normad LG, Maddison SE, et al : Immunologic studies on hamsters infected with *Entamoeba histolytica*. *J Parasitol* 74 : 866, 1978.

9. Harris WG, Bray RS : Cellular sensitivity in amebiasis. Preliminary results of lymphocytic transformation in response to specific antigen and to mitogen in carriers and disease states. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 70 : 340-345, 1975.
10. Hayward A, Greaves MF : Human T and B lymphocytes population. In Thomson RA (ed) : *Recent Advances in Clinical Immunology*. Churchill-Livingstone, Edinburgh London and New York 1977, pp 149-180.
11. Krupp IM, Jung RC : Immunity of amoebic infection. In Chon S, Sadum EH (eds) : *Immunology of parasitic infection*. Oxford Blackwell Scientific Pub 1976, pp 163-165.
12. Marcel P, Scoppe LE : The presentation of amoebiasis. *Med Clin North Amer* 66 : 689-705, 1982.
13. Ortiz - Ortiz L, Zamacona G, Sepulveda B, et al : Cell - mediated Immunity in patients with amebic abscess of the liver. *Clin Immunol Immunopathol* 4 : 127, 1975.
14. Petchclai B, Koonakosit R, Akarawong K : Cell - mediated immune response in amebiasis. *Southeast Asian J Med Public Health* 11 : 55-58, 1980.
15. Savanat TP, Viniyanond P, Nimitmongko N : Blast transformation of lymphocytes in amebiasis. *Am J Trop Med Hyg* 22 : 706-710, 1973.
16. Stuiiver PC, Gauld JLM : Corticosteroids and liver amebiasis. *Br Med* 2 : 344, 1978.
17. Tabata T, Enomoto T, Fujimura N, et al : Immunological function of human tonsils with special reference to E and EAC binding lymphocytes. *Acta Otolaring* 77 : 150, 1974.
18. Tomasi TB, Larson L, Challacombe S, et al : Mucosal Immunity. The origin and migration patterns of cells in the secretory system. *J Allergy Clin Immunol* 65 : 12-19, 1980.
19. Wijesunder M, de S : Hepatic amebiasis in immunodepressed mice. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 74 : 216, 1980.
20. Winchester RJ, Fu SM : Lymphocyte surface membrane immunoglobulin. *Scand J Immunol* 5 (Suppl) : 77-81, 1976.
21. Wybran 5, Fudenberg HH : Thymus derived rosette - forming cells in various human disease states : Cancer and other diseases. *J Cl Invest* 52 : 1026-1032, 1973.